

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4461—2025

小麦根腐病抗性鉴定技术规程

Techniquial code of prac for resistance evaluation of
wheat to common root rot

2025-01-09 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：中国农业科学院植物保护研究所。

本文件主要起草人：刘太国、张昊、刘博、高利、陈万权。



小麦根腐病抗性鉴定技术规程

1 范围

本文件规定了小麦根腐病抗性鉴定的鉴定程序、接种体制备、抗性鉴定圃、病情调查、抗性评价的技术要求。

本文件适用于对普通小麦(包括选育品种/系、地方品种、特殊遗传材料、近等基因系、重组自交系、DH 群体)、杂交小麦、其他栽培小麦种、野生小麦、小麦野生近缘种等根腐病抗性的苗期和成株田间鉴定和评价。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

小麦根腐病 wheat common root rot

由小麦平脐蠕孢 *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker 引起的小麦根、茎、叶、穗、叶鞘和种子病害的总称(形态及侵染症状等见附录 A 中 A.1)。

4 鉴定程序

小麦根腐病抗性鉴定程序包括接种体制备、鉴定选择、接种方法、严重度记载及标准、苗期或成株期抗性评价和抗性评价阶段。程序流程如图 1 所示。

5 接种体制备

5.1 接种菌株的分离

采集小麦根腐病病叶,切取病健交界处组织,用 70% 的乙醇表面消毒 30 s,1% 次氯酸钠溶液消毒 1 min,用无菌剪刀、镊子等将病组织剪成小块,置马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar,PDA)25℃ 黑暗条件下培养 3 d~5 d 后,将目标病原真菌挑出,放到新鲜的 PDA 培养上暂时保存,同时转入马铃薯葡萄糖液体培养基内 25℃ 下摇床上 150 r/min 摇培 3 d~5 d,培养液过滤、离心,取少量孢子悬浮液用无菌涂布棒涂到平板 PDA 上,1 d~2 d 后选取单菌落菌丝转至 PDA 平板进行鉴定和保存。通过分离物纯化、形态学及分子生物学鉴定、致病性测定,筛选强致病力菌株,0℃~4℃ 冷藏保存备用。

5.2 接种体

接种所用分离物应为当地致病力强的根腐病病菌分离物,接种体制备见 A.2。

6 成株期抗性鉴定圃

6.1 鉴定圃

鉴定圃应选择具备良好的自然发病环境和灌溉条件、地势平坦、土壤肥沃的地块。鉴定圃内不施用任何杀菌剂。

6.2 对照品种

选用 Sonalika、龙麦 15 作为感病品种,新克旱 9 号作为中抗品种,也可增加当地抗病性稳定的品种作为相应对照品种。

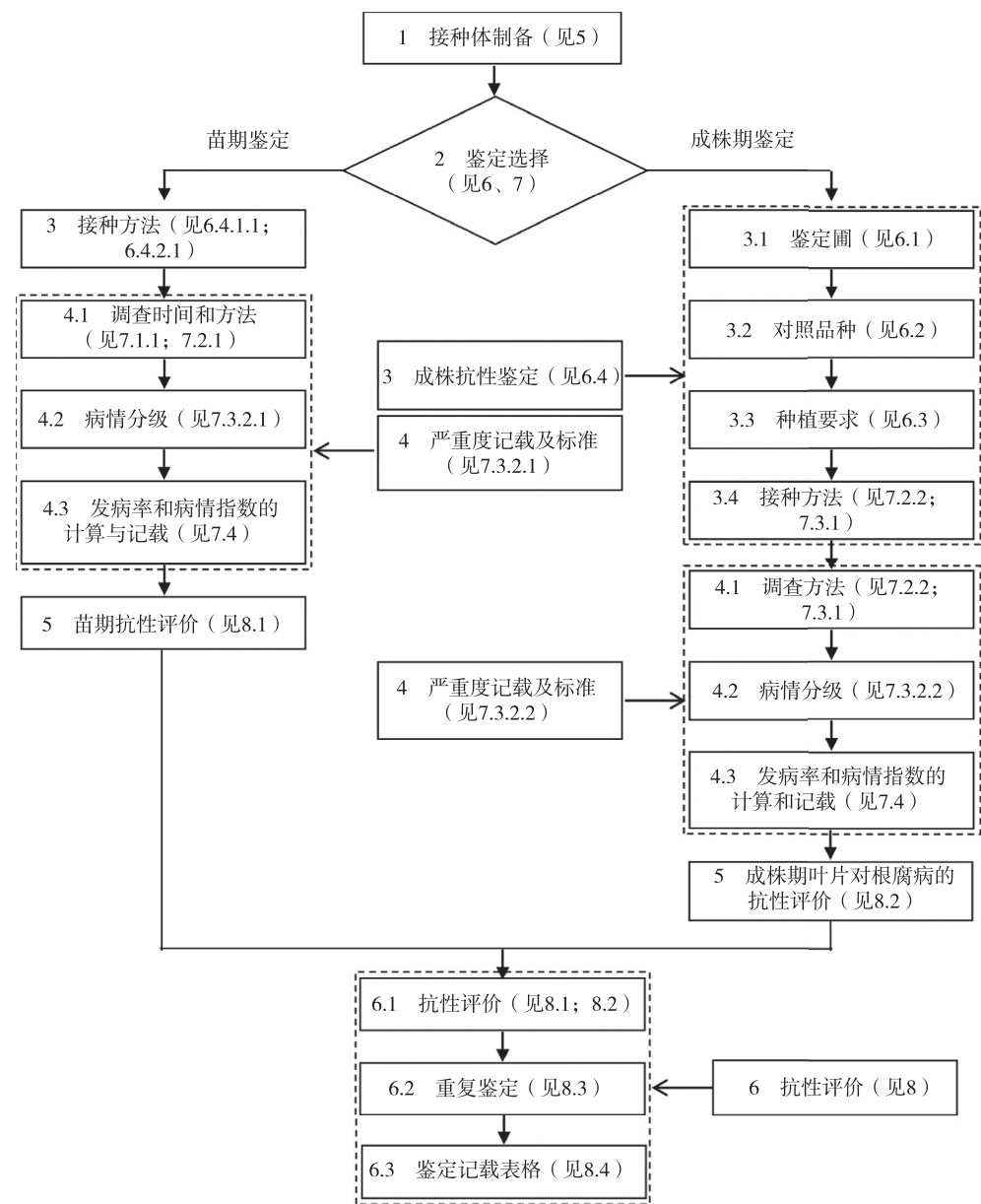


图 1 小麦根腐病抗性鉴定程序流程

6.3 种植要求

播种时间、土壤肥力水平和耕作管理与大田生产一致，鉴定材料随机排列。鉴定圃采用开畦条播、等行距配置方式。畦埂宽 50 cm，畦宽 250 cm，畦长视地形、地势而定；距畦埂 125 cm 处顺畦种 1 行诱发行，在诱发行两侧 20 cm 横向种植鉴定材料，行长 100 cm，行距 25 cm～33 cm，株距 5 cm，每份鉴定材料种植 2 行，重复 3 次，每 20 份鉴定材料设 1 组中抗和感病对照品种材料。鉴定圃四周设 100 cm 宽的保护区，见图 2。



图中：□表示矩形框表示畦埂；—表示实线表示诱发行和对照品种；---表示表示鉴定材料。

图 2 鉴定圃田间配置

6.4 接种

6.4.1 接种时期

6.4.1.1 室内苗期根腐病接种时期

小麦叶片接种在第三叶完全展开时进行。

6.4.1.2 田间成株期根腐病接种时期

小麦根腐病成株期接种可于小麦分蘖期、旗叶出现期、抽穗扬花期 3 个小麦生育时期进行。

6.4.2 接种方法

6.4.2.1 室内苗期接种方法

6.4.2.1.1 苗期叶片接种方法

在超净台中切取保存在冰箱中的根腐病菌菌块至 PDA 培养皿中,如果保存的为孢子悬浮液,则吸取孢子悬浮液至 PDA 培养皿中,并用无菌玻璃棒将孢子悬浮液涂布均匀,室温黑暗培养 5 d~7 d。菌落颜色变黑时,载玻片用火焰灭菌,冷却后刮取培养皿表面的菌丝,用无菌蒸馏水稀释,经 4 层纱布过滤除去菌丝,转移至无菌烧杯中,调整孢子浓度至 5×10^5 个孢子/mL。种子催芽后播种至盆钵内,小麦幼苗第 3 叶完全展开时接种,用手持小喷雾器将孢子悬浮液均匀喷至整个植株,接种时加入 100 μ L/L 的 Tween 20 以促进孢子分散,每株接种孢子悬浮液 0.5 mL。接种后置于 20 $^{\circ}$ C、相对湿度 100% 的黑暗条件下保湿 12 h~24 h,加湿器每隔 30 min 打开 2 min,促进孢子侵染。随后,植株转移至 24 $^{\circ}$ C/16 $^{\circ}$ C(白天/黑夜)的温室中培养,10 d 后调查叶片发病情况。

6.4.2.1.2 苗期根部接种方法

将 200 g 无菌土放入 7 cm $\times$ 9 cm $\times$ 7 cm(底部直径 $\times$ 口部直径 $\times$ 高)盆钵中,在其表面摆布 10 粒~15 粒小麦种子,然后依次覆 20 g 无菌土、1 g 小米粒接种体、30 g 无菌土,每个盆钵加水 50 mL,接入无病菌小米作为对照,相同处理放置在同一个托盘上,置于 14 h/10 h 光暗交替,温度 24 $^{\circ}$ C/16 $^{\circ}$ C(白天/黑夜)、湿度 60%/80% 的人工气候箱中培养,30 d 后调查。

6.4.2.2 成株期接种方法

6.4.2.2.1 高粱粒接种体接种法

在田间小麦出苗后 45 d 将培养好的高粱粒接种体(接种体制备见 A.2)撒于小麦植株根部,每 100 cm 行长接种 100 粒高粱粒接种体。接种后灌水以保持田间高相对湿度,此后视降雨情况每隔 10 d 浇水 1 次,以利于发病。

6.4.2.2.2 孢子悬浮液喷雾接种法

将配制好的孢子悬浮液(5×10^5 个孢子/mL),在傍晚无风的天气条件下进行叶面喷雾接种,接种后应覆盖塑料薄膜及时保湿,翌日于 8:00—10:00 去除塑料薄膜,接种后灌水以保持田间高相对湿度,此后视降雨情况每隔 10 d 浇水 1 次,以利发病。

7 病情调查

7.1 调查时间

苗期调查时间为小麦接种后 10 d(叶片接种)或 30 d(根部接种)以上,成株期调查时间为感病对照充分发病至乳熟末期,在扬花期、灌浆期、乳熟末期各调查 1 次。

7.2 调查方法及项目

7.2.1 苗期调查

苗期调查时记载每个单株的发病级别,按叶片或根分别进行记载。

7.2.2 成株期调查

调查时观测记载每份鉴定材料群体的发病状况,根据病害症状描述,逐份材料进行调查,分别按根、叶记载病情级别,并分别计算病情指数和平均严重度。

7.3 发病程度记载及标准

7.3.1 调查方法

成株期调查小麦根部或叶片病害严重程度时每份材料随机抽样 20 株,根据病害症状描述,调查和记载每株叶片的病情级别;乳熟期调查每份鉴定材料所有株叶部病害发生的病情级别;3 次重复。

7.3.2 病情分级

7.3.2.1 苗期病情分级

7.3.2.1.1 苗期叶片病情严重程度分级

每个小麦品种(系)苗期叶片对根腐病菌的侵染反应主要根据坏死或褪绿有无和侵染斑相对大小划分为 5 级,详细描述按表 1 小麦根腐病苗期叶部病情分级标准,图片见附录 B.1 中图 B1。

表 1 小麦根腐病苗期叶部病情分级标准

严重程度分级	症 状 描 述
1	无症状或深褐色至黑色小病斑,周围无褪绿或坏死
2	深褐色至黑色小病斑,周围可见少量褪绿或坏死
3	深褐色至黑色小病斑,周围完全被明显的褪绿或坏死晕圈包围,病斑一般不连成片
4	深褐色至黑色小病斑,周围完全被明显褪绿或黄褐色坏死晕圈包围,部分病斑连成片
5	无法辨别深褐色或黑色病斑中心,大部分病斑连片褪绿或黄褐色坏死

7.3.2.1.2 苗期根部病情严重程度分级

每个小麦品种(系)苗期根部对根腐病菌的侵染反应主要根据褐根或黑根占总根长的比例划分为 4 级,详细描述按表 2 小麦根腐病苗期根部病情分级标准。

表 2 小麦根腐病苗期根部病情分级标准

严重程度分级	症 状 描 述
0	无症状
1	$0 < \text{褐根或黑根占总根长} \leq 25\%$
2	$25\% < \text{褐根或黑根占总根长} \leq 50\%$
3	$50\% < \text{褐根或黑根占总根长} \leq 75\%$
4	褐根或黑根占总根长 $> 75\%$

7.3.2.2 成株期病情分级

成株期病情严重程度分级及其对应的症状描述分为 0 级~4 级法和 0 级~9 级法,分别适用于不同评价目的。见表 3、表 4。

表 3 小麦根腐病成株期植株病情严重程度分级标准 0 级~4 级法

严重程度分级	症 状 描 述
0	叶部无病斑
1	$0 < \text{旗叶病斑占旗叶叶面积} \leq 5\%, 0 < \text{第 2 叶病斑占叶面积} \leq 10\%$
2	$5\% < \text{旗叶病斑占旗叶叶面积} \leq 25\%, 10\% < \text{第 2 叶病斑占叶面积} \leq 40\%$
3	$25\% < \text{旗叶病斑占旗叶叶面积} \leq 50\%, 40\% < \text{第 2 叶病斑占叶面积} \leq 80\%$,叶鞘发病
4	旗叶病斑占旗叶叶面积 $> 50\%$,第二叶病斑占叶面积 $> 80\%$,第二叶片枯死,叶鞘发病严重
注:适用于简化小麦根腐病分级与评价,重点评价旗叶和旗下叶,用来代表整个植株发病情况。	

表 4 小麦根腐病成株期植株病情严重程度分级标准 0~9 级法

严重程度分级	症 状 描 述
0	无症状
OE	无症状(可能未接种上导致的逃逸)
1	仅大部分最底部叶片有少数几个单独的病斑
2	底部第 1 叶被轻度侵染,底部第 2 叶病斑呈分散状
3	植株底部 1/3 叶片被轻度侵染,最底部叶片中等侵染

表 4（续）

严重度分级	症 状 描 述
4	底部叶片中等到严重侵染,伴有分散至轻度病斑,且病斑扩展至紧邻植株中点以下的叶片
5	底部叶片严重侵染,中等至轻度侵染扩展至植株中点,植株中点上部叶片无侵染
6	植株底部 1/3 叶片严重侵染,中间叶片中等侵染,植株中点上的叶片有分散病斑
7	底部叶片病斑严重,中间叶片侵染扩展至旗下叶或旗叶有痕量病斑
8	底部和中间叶片病斑严重,植株上部 1/3 叶片中等至严重侵染,旗叶侵染比痕量多
9	所有叶片严重侵染,穗部也受一定程度侵染,穗部侵染亦可用 1 级~9 级或侵染面积百分比(10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%)描述,穗部侵染与叶部侵染级别记录时用“/”隔开
N	表示因其他病害或影响因素导致的坏死而无法记载
注:适用于细化分级与根腐病抗病评价,包括基因推导、遗传分析与目标抗病基因定位等。	

7.4 发病率和病情指数的计算与记载

根据 7.3 描述的分级标准记载病情,按公式(1)计算病情指数(DI)。

$$DI = \frac{\sum (s \times n)}{N \times S} \times 100 \tag{1}$$

式中:

- DI ——病情指数;
- s ——各病情级别的代表数值;
- n ——各病情级别有植株(叶片)数;
- N ——调查总株(叶片)数;
- S ——最高级病情级别的代表数值。

8 抗性评价

8.1 小麦苗期对根腐病的抗性评价

当鉴定圃中的感病对照材料病情指数达到 40 以上时,该批次材料抗苗期根腐病鉴定视为有效。依据鉴定材料的病情指数确定小麦苗期对根腐病的抗性水平,抗性划分标准根据对照材料的鉴定结果进行评价,按表 5 小麦苗期根腐病抗性评价标准(叶片或根部接种)。

表 5 小麦苗期根腐病抗性评价标准(叶片或根部接种)

病情指数(DI)	抗性评价
DI≤ 1.2	高抗(Highly resistant,HR)
1.2<DI≤ 5	抗病(Resistant,R)
5 <DI≤ 20	中抗(Moderately resistant,MR)
20<DI≤ 40	中感(Moderately resistant,MS)
DI>40	感病(Susceptible,S)

8.2 小麦成株期叶片对根腐病的抗性评价

8.2.1 当鉴定圃中的感病对照材料达到相应感病程度(3 级以上)时,该批次材料抗叶部根腐病鉴定视为有效。依据鉴定材料发病的平均严重度确定其对根腐病的抗性水平,级别划分见表 6 小麦成株期根腐病叶片抗性评价标准。

表 6 小麦成株期根腐病叶片抗性评价标准

平均严重度	抗性评价
平均严重度 ≤ 0.5	高抗(HR)
0.5< 平均严重度 ≤ 2.0	抗病(R)
2.0< 平均严重度 ≤ 3.0	中抗(MR)
3.0< 平均严重度 ≤ 3.5	中感(MS)
平均严重度 > 3.5	感病(S)

8.2.2 如果小麦根腐病自下部至穗部呈现明显的病害梯度,在病害记载与评价时以双位数字表示,第一位数字 D_1 表示地上部从底部叶片至穗部的发病相对高度,将植株分为 9 段,植株中间高度为 5;第二位数字 D_2 表示病害严重度,两个数字均按 0~9 记录,对每一个品种的病害严重度计算公式见公式(2)

$$S\% = (D_1/9) \times (D_2/9) \times 100 \tag{2}$$

式中:

S ——严重度;

D_1 ——地上部从底部叶片至穗部的发病相对高度;

D_2 ——病害严重度(0:无病斑;1:0<病斑面积占叶面积≤10%;2:10%<病斑面积占叶面积≤20%;3:20%<病斑面积占叶面积≤30%;4:30%<病斑面积占叶面积≤40%;5:40%<病斑面积占叶面积≤50%;6:50%<病斑面积占叶面积≤60%;7:60%<病斑面积占叶面积≤70%;8:70%<病斑面积占叶面积≤80%;9:病斑面积占叶面积>80%)。

表 7 小麦成株期根腐病叶片抗性评价标准

双数法	抗性评价
00	免疫(Immune,I)
<12	高抗(HR)
12~34	抗病(R)
35~56	中感(MS)
57~78	感病(S)
>78	高感(HS)

当苗期与成株期或不同发病部位鉴定结果不一致时,以感病严重的评价为准。

8.3 重复鉴定

初次鉴定中表现为免疫、抗病、中抗的材料,第 2 年进行重复鉴定。当两年抗性鉴定结果不一致时,以记载的最高病情级别为准。

8.4 鉴定记载表格

小麦根腐病抗性鉴定原始记录及结果记载表见 8 或/和表 9。

表 8 _____ 年小麦根腐病抗性鉴定原始记录及结果记载表

编号	品种 名称	来源	叶片或根部							叶片						
			病情级别及病情指数						抗性 评价	严重度						抗性 评价
			0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	病情指数		0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	平均	
注 1:鉴定地点_____										地势_____						
注 2:接种病原菌分离物编号_____																
注 3:接种日期_____										调查日期_____						
注 4:播种日期_____																

鉴定技术负责人:

表 9 _____ 年小麦根腐病成株期抗性鉴定原始记录及结果记载表

编号	品种名称	来源	植株发病高度											植株发病严重度												抗性评价
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均	0	OE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	N	平均	
注 1:鉴定地点_____ 地势_____																										
注 2:接种病原菌分离物编号_____																										
注 3:接种日期_____ 调查日期_____																										
注 4:播种日期_____																										

鉴定技术负责人:

附 录 A

(资料性)

小麦根腐病病原

A.1 形态和侵染症状

A.1.1 形态

小麦根腐病的病原有性阶段为禾旋孢腔菌 *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, 属真菌界(Fungi)子囊菌门(Ascomycota)座囊菌纲(Dothideomycetes)格孢腔菌目(Pleosporales)格孢腔菌科(Pleosporaceae)旋孢腔菌属(*Cochliobolus*)真菌,有性阶段在自然界很少见到,但可由亲和交配型人工诱导产生。假子囊壳生于病残体上,棕黑至黑色,凸出,球形,有喙和孔口,直径为 $300\ \mu\text{m}\sim 440\ \mu\text{m}$;子囊无色,棒状,双囊壁,大小为 $(20\sim 45)\ \mu\text{m}\times (120\sim 250)\ \mu\text{m}$,内有 1 个~8 个子囊孢子作螺旋状排列。子囊孢子线形,透明,淡黄褐色,有 4 个~14 个隔膜,大小为 $(5\sim 10)\ \mu\text{m}\times (200\sim 450)\ \mu\text{m}$ 。

小麦根腐病的病原无性阶段为小麦平脐蠕孢 *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, 异名为 *Helminthosporium sorokinianum* Sacc.。在病部形成的黑霉或在培养基上长出的黑色菌落主要为病菌的分生孢子梗及分生孢子。分生孢子梗单生或丛生,直立,分隔, $(6\sim 8)\ \mu\text{m}\times (110\sim 150)\ \mu\text{m}$,分生孢子产生于分生孢子梗末端,橄榄棕色、椭圆形两端变窄,基部有明显的脐点,但不突出, $(15\sim 20)\ \mu\text{m}\times (60\sim 120)\ \mu\text{m}$, 3~10 个分隔,略弯曲,孢子壁光滑,分隔处加厚。

A.1.2 侵染症状

小麦苗期和成株期均可被侵染,幼芽、幼苗被侵害造成幼苗根部发病变褐、幼苗弱小甚至死亡;成株茎、叶受害造成叶片产生褐斑、早枯,光合作用下降,籽粒不饱满,产量降低;穗和籽粒被害,颖壳上产生黑褐色病斑、结实率下降,种胚(及种子其他部位)变黑,发芽率低。

A.2 接种体制备

A.2.1 高粱粒接种体制备

将高粱粒加水煮熟,自来水淘洗,捞出,分装于 500 mL 三角瓶中,在 $121\ ^\circ\text{C}$ 下灭菌 40 min,冷却后即制成高粱粒培养基。将纯化的 PDA 斜面菌种转接到高粱粒培养基上扩大培养,待长满菌丝后,即为高粱粒接种体。在无菌条件下,将高粱粒接种体晾干于 $4\ ^\circ\text{C}$ 下储存备用。

A.2.2 小米粒接种体制备

将小米粒在室温下浸泡 12 h,沥干后,装入三角瓶中,在 $121\ ^\circ\text{C}$ 下灭菌 30 min,翌日混匀后再灭菌 1 次,冷却后即制成小米粒培养基。将经 PDA 培养基平板活化培养的小麦根腐病菌接种于经 2 次高压灭菌的小米粒培养基,在 $23\ ^\circ\text{C}\sim 25\ ^\circ\text{C}$ 下黑暗培养,菌丝布满小米粒后,将麦粒从三角瓶中取出,室温下晾干、研磨备用。

A.2.3 分生孢子接种体制备

接种前将保存的高粱粒接种体用 0.3% 蔗糖水溶液湿润,并用 2 层纱布盖上,喷水保持湿润,促进产孢。待大量产孢后用无菌水洗下孢子,制成孢子悬浮液。孢子悬浮液浓度调至 10×10 倍显微镜下,每视野平均孢子数为 30 个(为 1.0×10^5 个/mL~ 5.0×10^5 个/mL)。

附 录 B
(资料性)

小麦根腐病病情分级标准参考图

B.1 苗期小麦根腐病病情严重度分级标准

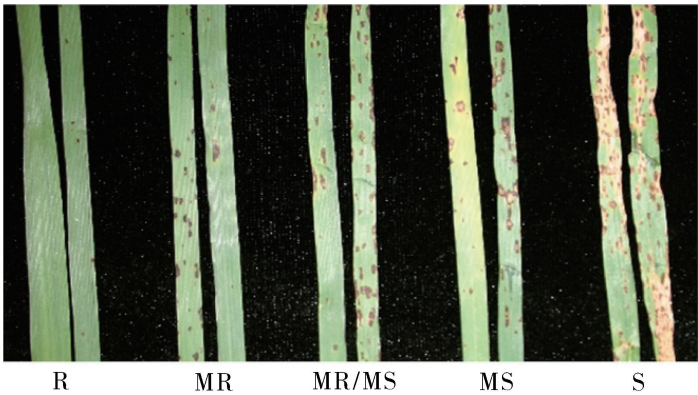


图 B.1 苗期小麦根腐病病情严重度分级标准
(引自 Ayana 等,2018,Frontiers in Plant Science)

B.2 成株期小麦根腐病发病叶片高度及发病状况示意图



注：白色斜线表示植株叶片距离地面高度。最左侧图中仅底部叶片发病，最右侧图中穗部有发病症状。

图 B.2 成株期小麦根腐病发病叶片高度及发病状况

(引自 Eyal 等,1987,The Septoria diseases of wheat;Concepts and methods of disease management)

B.3 成株期小麦根腐病发病面积标准

见图 B.3。

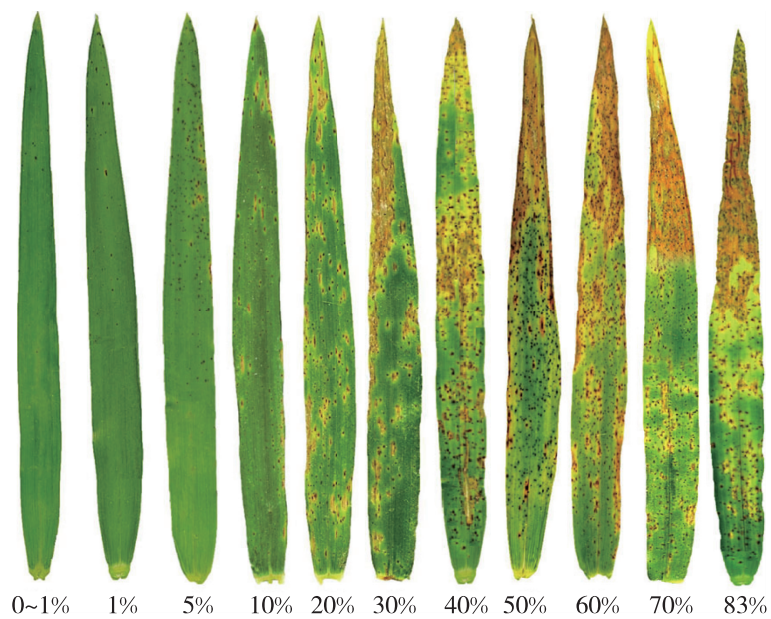


图 B.3 成株期小麦根腐病发病面积标准
(引自 Domiciano 等, 2014, Plant Pathology)